Zur Wirkung von Ultraschall auf menschliche Chromosomen in vitro

Dr. Hans-Dieter Rott

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. G. Koch

Zur Wirkung von Ultraschall auf menschliche Chromosomen in vitro

Der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
als Habilitationsschrift

vorgelegt
von

Dr. Hans-Dieter Rott



Tag der Habilitation: 29. 5. 1973

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

		Seite
1	Einleitung	1
2	Bisherige Chromosomenuntersuchungen	4
21	Beschallung in vivo	4
22	Beschallung in vitro	6
221	mit Dauerschall	6
222	mit Impulsschall	8
3	Eigene Untersuchungen	10
31	Beschallung mit Dauerschall	10
311	Intensität 0,002 W/cm^2	10
312	Intensität 0,02 W/cm^2	14
313	Intensität 0,2 W/cm^2	17
314	Intensität 4 W/cm^2	19
315	Intensität 35 W/cm^2	22
32	Beschallung mit Impulsschall	26
321	Intensität 0,02 W/cm^2	26
4	Diskussion	28
5	Zusammenfassung	32
6	Literatur	33

1 Einleitung

Der Ultraschall hat infolge seiner hohen Frequenz die Eigenschaft, sich ähnlich dem Licht gradlinig auszudehnen. An Grenzflächen zwischen zwei Medien unterschiedlichen Schallwellenwiderstandes (Produkt aus Dichte x Schallgeschwindigkeit) wird ein Teil der Ultraschallenergie reflektiert. Diese physikalischen Eigenschaften gestatteten es, eine Reihe neuer diagnostischer Techniken zu entwickeln, die heute in der Klinik ihren festen Platz haben und nicht mehr entbehrt werden können.

Die Anwendungsmethoden können in zwei Gruppen unterteilt werden, bei denen verschiedene Schallformen benutzt werden:
Beim Impulsschall wird ein kurzer Ultraschallimpuls in das Untersuchungsgebiet gegeben, der an verschiedenen Grenzflächen reflektiert wird. Die so entstehenden Echos werden vom Sender, der unmittelbar nach Impulsabgabe auf Empfang umschaltet, zeitlich nacheinander empfangen. Die Laufzeiten der Echos bis zur Rückkehr sind abhängig von der Entfernung der reflektierenden Grenzflächen vom Schallkopf. Die Reflexionen können nach Umwandlung in elektrische Impulse und elektronischer Verstärkung laufzeitproportional auf einem Oszillographenschirm dargestellt werden. Diese Methode, die als A-Scanning bezeichnet wird, hat ihr Hauptanwendungsgebiet in der Neurochirurgie, wo bei temporaler Durchschallung des Schädels unter anderem Aussagen über Lage und Ausdehnung von Ventrikeln und Haematomen gemacht werden können. Wenn der akustische Abtastvorgang durch Bewegung des Schallgebers entlang einer Geraden vorgenommen wird, erhält man bei entsprechender Darstellung der Echos auf dem Bildschirm ein zweidimensionales Schnittbild des

Untersuchungsbereiches. Diese Methode wird als B-Scanning bezeichnet. Neben der Anwendung in verschiedendsten medizinischen Fachbereichen wird sie in der Geburtshilfe zur Placentalokalisation, zur Diagnostik von Mehrlingsschwangerschaften und Lageanomalien sowie zur Vermessung von Feten benutzt. Die dabei benutzten Geräte arbeiten zur Zeit im Frequenzbereich von 1 - 3 MHz bei einer mittleren Intensität von ungefähr 10 mW/cm^2 (Pulsintensität 10 W/cm^2).

Dauerschall wird bisher vorwiegend zur Überwachung fetaler Herztöne angewendet. Dabei wird ein kontinuierlicher Ultraschallstrahl einer Intensität von 5 - 20 mW/cm^2 bei 1,5 - 2,5 MHz auf das fetale Herz gerichtet. Durch Reflexion an dem sich bewegenden Herzen entsteht nach dem Doppler-Prinzip eine Reflexionswelle, deren Frequenz je nach Bewegungsrichtung des Herzens etwas unter oder über der Ausgangsfrequenz liegt. Durch Überlagerung dieser beiden Wellen entsteht eine Interferenzwelle mit einer Frequenz im hörbaren Bereich, die nach Empfang und elektronischer Verstärkung zur Registrierung der fetalen Herzaktion benutzt werden kann. Diese Technik des "fetal monitoring" bietet gegenüber den älteren Methoden mit Mikrophon oder Ableitung des kindlichen EKG's die Vorteile geringerer Störanfälligkeit und der Benutzbarkeit während der Wehen.

Seit der Einführung dieser Methoden in die Geburtshilfe, wo Embryonen und Feten dem Ultraschall ausgesetzt werden, ist die Frage möglicher schädigender Nebenwirkungen von besonderer Aktualität.

Nach HOLLÄNDER (1972) können die biologischen Wirkungen des Ultraschalles auf drei Primärwirkungen zurückgeführt werden:

1) Wärmewirkung
Der Ultraschall breitet sich in Flüssigkeiten und weichen Geweben als rein mechanische Longitudinalschwingung aus, wobei ein Teil der Energie absorbiert und in Wärme umgesetzt wird. Der Grad der Erwärmung hängt dabei neben der Ultraschallintensität auch von dem Absorptionskoeffizienten des Gewebes sowie von der Möglichkeit der Wärmeableitung und des Wärmeabtransportes durch Blut ab. Bei den diagnostischen Intensitäten kann die Wärmewirkung des Ultraschalles als Nebenwirkung vernachlässigt werden (HOLLÄNDER, 1972).
2) Mechanische Wirkung
Eine biologische Wirkung des Ultraschalles, die auf eine primär mechanische Wirkung zurückzuführen ist, wurde bisher lediglich im Zusammenhang mit dem Auftreten von Kavitationen und eventuell Pseudokavitationen beobachtet. Unter Kavitation versteht man die Tatsache, daß höhere Ultraschall-Intensitäten in entgasten Flüssigkeiten in der Sogphase zu Hohlraumbildungen führen, die in der Druckphase wieder zusammenfallen, wobei Druckspitzen bis zu 1000 Atmosphären auftreten. Dieses Phänomen ist abhängig von der Ultraschall-Intensität und Frequenz sowie von der Viskosität und dem äußeren Druck des beschallten Substrates. In gashaltigen Flüssigkeiten und in Geweben kommt es dagegen nicht zur Bildung echter Vakua, sondern zu Gasblasenbildungen (Pseudokavitation). Die Kavitation führt zu Zerstörung von Geweben und Zellen. Diese Eigenschaft des Ultraschalles wird u.a. zur Zellzertrümmerung in der Biochemie und in der Bakteriengenetik genutzt.
3) Chemische Wirkung
Durch Ultraschall kann eine Reihe chemischer Reaktionen ausgelöst werden, so Oxydationen, die auf die Bildung von H_2O_2 zurückzuführen sind, aber auch Reduktionen wie die Bildung von Nitrit aus Nitrat. Ob es sich allerdings hier um eine echte Primärwirkung handelt, ist

zweifelhaft. Wahrscheinlich sind diese Reaktionen abhängig vom Auftreten von Kavitationen. Beim Aufreißen der Flüssigkeit entstehen elektrische Spannungen, deren Entladungen zu Ionisationen führen und die genannten Reaktionen in Gang setzen könnten. In anderen Fällen sind die chemischen Reaktionen wahrscheinlich durch lokale Erhitzungen infolge starker Kompression von Gasblasen bedingt, die bei der Pseudokavitation entstehen.

Darüberhinaus können durch Ultraschall Makromoleküle wie Polysaccharide und Proteine depolymerisiert werden. Ob diese kolloidchemische Wirkung ebenfalls an das Auftreten von Kavitationen, Pseudokavitationen oder Temperaturerhöhungen gebunden ist oder ob hier eine primär mechanische Wirkung vorliegt, ist nicht bekannt.

Inwieweit Ultraschall imstande ist, über derartige Wirkungen Schäden an den Chromosomen oder am Spindelapparat der Mitose zu setzen und damit den genetischen Apparat beschallter Zellen zu verändern, ist nicht hinreichend untersucht.

Um Antwort auf die Frage nach einer solchen mutagenen Wirkung des Ultraschalles zu erhalten, wurden die Chromosomen aus menschlichen Lymphocyten untersucht, die zuvor mit Ultraschall verschiedener Intensitäten zu verschiedenen Zellcyklusstadien beschallt worden waren.

2 Bisherige Chromosomenuntersuchungen

21 Beschallung in vivo:

SERR u. Mitarb. (1970) behandelten 10 Frauen über 10 h mit Dauerschall (6 MHz; 22,5 mW/cm^2), bei denen anschließend aus therapeutischen Gründen die Schwangerschaft unterbrochen wurde, und verglichen sie mit 10 Kontrollfällen. Zur zytogenetischen Untersuchung wurden jeweils fetale Zellen durch

Amniozentese gewonnen. Die Untersuchung ergab in zwei der beschallten Fälle eine gegenüber den Kontrollen erhöhte Bruchrate von über 6 %. Aufgrund dieser Befunde halten die Autoren eine Schädigung fetaler Chromosomen durch diagnostischen Ultraschall für möglich. Die makroskopischen und histologischen Untersuchungen des Abortmaterials ergaben dagegen keine pathologischen Befunde.

BOYD u. Mitarb. (1971) untersuchten die Chromosomen bei 6 Kindern, die intrauterin diagnostischem Ultraschall ausgesetzt waren und fanden keine Erhöhung der Aberrationsrate gegenüber den Kontrollen.

ABDULLA u. Mitarb. (1971) beschallten insgesamt 35 Frauen, bei denen die Schwangerschaft durch Hysterektomie beendet werden sollte. 12 Frauen wurden über 1 h mit Impulsschall (1,5 MHz; Pulsintensität 14 W/cm^2; Pulsfolge 300/sec.) und 23 Frauen über 10 h mit Dauerschall (2 MHz; 22 und 8 mW/cm^2) behandelt. Eine dritte Gruppe von 11 Frauen diente als Kontrolle. Die anschließende zytogenetische Untersuchung aus Venen- bzw. Nabelschnurblut ergab weder bei den Müttern noch bei den Feten eine erhöhte Aberrationsrate gegenüber den Kontrollen. Es wurde lediglich bei einem der Feten, der Dauerschall ausgesetzt war, eine durchgehende Trisomie X festgestellt.

DEWHURST (1971) beschallte 12 schwangere Frauen über 1 h mit diagnostischem Impulsschall (1,5 MHz; Pulsintensität 14 W/cm^2; Pulsfolge 300/sec.) und weitere 12 Frauen mit diagnostischem Dauerschall (2 MHz; 22 und 8 mW/cm^2) über 10 h. Die zytogenetische Untersuchung der Kinder, die direkt nach der Beschallung durch Sectio entwickelt wurden, ergab keine gehäuften Chromosomenaberrationen gegenüber den Kontrollen.

22 Beschallung in vitro:

Bei in-vitro-Versuchen kann den Zellen, die beschallt werden sollen, eine genau definierte Intensität appliziert werden, außerdem kann die Intensität beliebig gesteigert werden, ohne daß man Gefahr läuft, einen Patienten zu schädigen. Deshalb ist diese Art der Versuche besser zur Auffindung des Intensitätsbereiches geeignet, der gefahrlos bei der Diagnostik eingesetzt werden kann. Entsprechende Untersuchungen wurden deshalb von verschiedensten Arbeitsgruppen durchgeführt:

221 Dauerschall

FISCHER u. Mitarb. (1967) beschallten blutgefüllte Nabelschnüre (810 kHz; 3 W/cm^2) über 10 min und fanden anschließend bei den Chromosomen aus Lymphocytenkulturen des beschallten Blutes keine erhöhte Aberrationsrate.

BERNSTINE (1969) beschallte menschliche Lymphocyten (6 MHz; 20-30 mW/cm^2) über 18 h und beobachtete bei anschließender Untersuchung ebenfalls keine Unterschiede gegenüber den Kontrollen.

Dagegen fanden SERR u. Mitarb. (1970) nach Beschallung von menschlichen Fibroblastenkulturen (2,2 MHz; 1 u. 2 W/cm^2) über 10 h einen deutlichen Abfall der Teilungsaktivität gegenüber den Kontrollen.

MACINTOSH u. DAVEY (1970) beschallten menschliche Lymphocyten, die bereits in Kulturmedium suspendiert waren (2,25 MHz; 8 und 17 mW/cm^2) 1 und 2 Stunden lang. Die Untersuchung der Chromosomen nach anschließender Kultivierung über 72 h ergab eine deutliche Erhöhung an Chromatid- und Chromosomenaberrationen. Die gleichen Autoren konnten in einer späteren Arbeit (1972) bei einer Frequenz

von 2 MHz einen Schwellenwert bei 8,2 mW/cm^2 feststellen, unterhalb dessen keine Aberrationen induzierbar waren. Bei Überschreitung dieses Wertes traten in ihren Versuchen verschiedene Aberrationsformen (Gaps, Brüche, Chromosomen-Umbauten) gehäuft auf.

COAKLEY u. Mitarb. (1971) beobachteten, dass die Aberrationsrate beschallter Lymphocyten unabhängig von der Intensität anstieg, wenn die Zellen im Kulturmedium suspendiert waren, während sich bei den Lymphocyten, die in Vollblut beschallt wurden (1 MHz; 3-45 W/cm^2), dieser Effekt nicht zeigte. Die Autoren vermuten aufgrund ihrer und der Ergebnisse von MACINTOSH u. DAVEY, daß aus den Polyäthylenbeuteln, die während der Versuche benutzt wurden, durch die Ultraschalleinwirkung Substanzen freigesetzt werden, die Chromosomenaberrationen zu induzieren vermögen.

BOYD u. Mitarb. (1971) behandelten menschliche Lymphocyten (2,0 MHz; 25-30 mW/cm^2) vor Kulturbeginn (G_1-Phase des Zellcyklus) über 13 h, während der Kultur (S- und G_2-Phase) über 10 h und zum Ende der Kultur nach Zugabe von Colcemid (Mitosestadium) über 4 h und konnten in keinem der Versuche eine Chromosomenschädigung nachweisen.

BOBROW u. Mitarb. (1971) beschallten ebenfalls menschliche Lymphocyten zu verschiedenenen Zellcyklusstadien (1,5 MHz; 0,014 - 2,77 W/cm^2) von 5 min bis zu 1 h und fanden ebenfalls keine erhöhten Aberrationsraten.

KUNZE-MÜHL u. GOLOB (1972) beschallten Vollblut (2 MHz; 20 mW/cm^2 und 810 kHz, 3 W/cm^2) und untersuchten nach anschließender Kultivierung. Auch hier war das Ergebnis negativ: Chromosomenaberrationen wurden nicht vermehrt beobachtet.

BUCKTON u. BAKER (1972) behandelten Vollblut und in Kulturmedium suspendierte Lymphocyten vor Kulturbeginn (1 MHz, 0,03 W/cm^2, 0,3 W/cm^2 und 3 W/cm^2) und fanden ebenfalls keine erhöhte Aberrationsrate.

WATTS u. Mitarb. (1972) beschallten Vollblut und in Kulturflüssigkeit suspendierte Lymphycyten vor und während der Kultur (G_1-, S- und G_2-Phase) sowie Plasma, das anschließend zum Kulturansatz verwendet wurde. Dabei wurden 9 mW/cm^2 über 20 h und 7,7 W/cm^2 über 2 h bei einer Frequenz von 2 MHz appliziert. In keinem der Versuche konnten durch den Ultraschall Chromosomenaberrationen induziert werden.

SPERLING (1972) beschallte ankultivierte menschliche Lymphocyten mit und ohne Colcemidzusatz in der Mitose. Bei der anschließenden Auswertung wurden neben den Chromosomenaberrationen der Mitose-Index, der Mitose-Stadienindex, Satellitenassoziationen, Überlagerung der Chromosomen in der Centromerregion und die Häufigkeit geschädigter Ana- und Telophasen registriert. Insgesamt konnte in den beschallten Kulturen lediglich eine Verringerung an Satellitenassoziationen nachgewiesen werden. Im Hinblick auf eine genetische Gefährdung kommt diesem Befund aber keine Bedeutung zu.

222 Impulsschall

Untersuchungen zur Frage einer Chromosomenschädigung durch Impulsschall wurden zuerst von BOYD u. Mitarb. (1971) durchgeführt. Die Autoren beschallten menschliche Lymphocyten (1,5 MHz, Impulsintensität 7,3 W/cm^2, Pulsfrequenz 750/sec.) in der G_1-, S-, G_2-Phase und in der Colchicin-behandelten Mitose über Zeiträume von 4 bis zu 13 h, ohne eine erhöhte Aberrationsrate feststellen zu können.

COAKLEY u. Mitarb. (1972) behandelten Vollblut mit Impulsschall verschiedener Frequenzen (1,0, 2,5 und 3,0 MHz bei Impulsintensitäten bis zu 350 W/cm^2). Die Aberrationsraten wurden dadurch in keinem der Versuche gegenüber den Kontrollen erhöht.

HILL u. Mitarb. (1972) beschallten Zellen des Chinesischen Hamsters (1 MHz, Pulsintensität 150 W/cm^2, Pulsfolge 1 000/sec.). Chromosomenaberrationen wurden bei anschließender Untersuchung nicht gehäuft beobachtet.

WATTS u. Mitarb. (1972) beschallten Vollblut und in Kulturflüssigkeit suspendierte Lymphocyten vor und während der Kultivierung (G_1-, S- und G_2-Phase) bis zu 20 h. Dabei wurden Impulsintensitäten bis zu 64 W/cm^2 über 2 h angewendet. Hinweise auf eine aberrationsauslösende Wirkung des Impulsschalls ergaben sich nicht.

3 Eigene Untersuchungen

Da bei den verschiedenen Schallformen und Intensitäten unterschiedliche Beschallungsmethoden angewendet wurden, sind methodische Angaben jeweils den entsprechenden Kapiteln vorangestellt worden.

31 Beschallung mit Dauerschall

311 Intensität 0,002 W/cm^2

Es wurden zunächst Versuche mit Dauerschall dieser Stärke durchgeführt, da bei der Dauerüberwachung von Feten diese Intensität die Frucht maximal erreicht.

Methode:
B e s c h a l l u n g s g e f ä ß (Abb. 1): Als Beschallungsgefäße dienten Aluminiumblöcke mit einer zentralen Bohrung von 2,8 cm Durchmesser, die zur Schallabsorption mit einer 0,7 cm dicken platingehärteten Silikonkautschukschicht ausgekleidet waren. Der Boden der Gefäße war abgeschrägt. Auf diese Art war eine optimale Absorption gewährleistet, sodaß durch Reflexion bedingte stehende Wellen größerer Amplitude ausgeschlossen werden konnten. Die im Impuls-Reflexionsverfahren gemessene Reflexdämpfung betrug bei 2 MHz ~50 db. Nach vollständiger, luftblasenfreier Füllung wurde die Öffnung mit einer sterilen Polyaethylenfolie verschlossen und mit einem Aluminiumdeckel mit zentraler Bohrung an das Gefäß fixiert. In Vorversuchen war eine aberrationsauslösende Wirkung des Silikonkautschuks und der Folie ausgeschlossen worden. Während der Beschallung lagen die Gefäße waagerecht, damit eventuell durch die Beschallung entstehende Gasblasen an den oberen Rand des Gefäßes wandern und damit nicht zu stärkeren Schallreflexionen führen konnten.

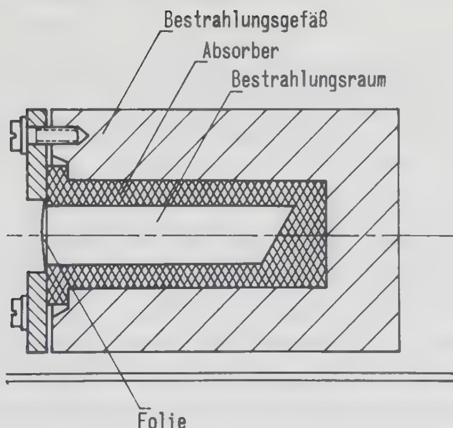


Abb. 1: Beschallungsgefäß für die Intensitäten 0,002 - 4 W/cm^2. Genaue Beschreibung siehe Text.

S c h a l l q u e l l e : Als Schallquelle diente ein unbedämpfter Bariumtitanat-Wandler von 15 mm Durchmesser mit einer Resonanzfrequenz von 2,1 MHz. Zur Ansteuerung des Wandlers diente ein Leistungsmeßsender (Wandel u. Goltermann MG-64), der auf eine Frequenz von 2,1 MHz abgestimmt war.

Die abgestrahlte Ultraschall-Leistung wurde durch Messung mit einer Schalldruckwaage bestimmt. Dazu wurde die Auslenkung einer in einem Wasserbad senkrecht hängenden geriffelten Silikongummischeibe gemessen, die durch einen zusätzlichen Auftriebskörper annähernd gewichtsentlastet war. Die Schallübertragung erfolgte durch ein mit einer schalldurchlässigen Folie verschlossenes Fenster. Diese Meßeinrichtung wurde mit der Ultraschallmeßeinrichtung der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt (PTB) in Braunschweig verglichen und geeicht.

K o p p e l u n g : Der Schallkopf wurde durch die Öffnung im Deckel des Beschallungsgefässes auf die Polyaethylenfolie aufgesetzt, wobei Aquasonic 100[R] als Kontaktmittel diente. Da der Schallkopf den gleichen Durchmesser wie die Gefäßöffnungen hatte, war gewährleistet, daß in etwa das gesamte im Gefäß befindliche Blut dem Ultraschall ausgesetzt war.

C y t o g e n e t i s c h e T e c h n i k : Blutspender waren jeweils klinisch gesunde Personen (Institutsangehörige). Bei der Abnahme wurden je 10 ml Blut 2 000 I.E. Heparin zugegeben. Das Blut wurde 10 bis 24 h im Kühlschrank bei 4°C gelagert und unmittelbar vor der Beschallung in die Beschallungsgefäße gefüllt, dann beschallt und gleich anschließend wieder in Universalcontainer zurückgefüllt. Bis zum Kulturansatz wurde das Blut wieder im Kühlschrank aufbewahrt.

Die Kulturen wurden nach einer etwas abgewandelten Methode nach MOORHEAD u. Mitarb. (1960) angesetzt und aufbereitet: Jeder Kulturansatz bestand aus 20 Tropfen Vollblut, 6 ml penicillinhaltigem Medium (TC 199, Difco), 2 ml fetalem Kälberserum und 0,2 ml Phytohaemagglutinin. Die Kulturdauer betrug 72 h, dabei wurden jeweils 2 h vor der Aufbereitung 0,5 µg/ml Colcemid zugegeben. Es wurden je Versuch 100 Mitosen mikroskopisch ausgewertet, wobei numerische und strukturelle Aberrationen sowie unspezifische Defekte (Spiralisierungsstörungen, Chromosomenpulverisierung) registriert wurden. Zur Nomenklatur sekundärer, struktureller Chromosomenaberrationen siehe GEBHART, 1970 und 1971. In fraglichen Fällen wurden Karyogramme angefertigt.

Ergebnisse:

Die Ergebnisse sind ersichtlich aus Tabelle 1:

Tabelle 1

Cytogenetische Befunde nach in-vitro-Beschallung von heparinisiertem Vollblut mit Dauerschall einer Intensität von 0,002 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungs-dauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen[1] G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen
Spender A								
5 min	8	4	1	2	1			
1 h	8	5	1	2				
Kontrolle	6	3		1	1			1
24 h	2			1	1			
Kontrolle	5			4	1			1
Spender B								
5 min	11	6	4	2	2			
1 h	13	7	2	4	1			
Kontrolle	9	2	4	1	2			

[1] G': Chromatid-Gap B': Chromatid-Bruch E': Chromatid-Austausch
G": Isochromatid-Gap B": Isochromatid-Bruch E": Chromosomenaustausch

Eine Erhöhung des Anteils sekundär gestörter Zellen durch die Beschallung konnte in keinem der Versuche festgestellt werden. Die registrierten Aberrationen waren sämtlich Gaps und Brüche, Umbaufiguren waren nicht vorhanden.

Hinweise für gehäufte Chromosomenfehlverteilungen ergaben sich ebenfalls nicht: tetraploide und hyperploide Zellen wurden nicht gehäuft beobachtet.

312 Intensität 0,02 W/cm^2

Diese Intensität wird bei der Dauerüberwachung von Feten vom Beschallungsgerät maximal abgestrahlt.

Methode:
B e s c h a l l u n g s g e f ä ß e , S c h a l l q u e l l e und K o p p e l u n g : siehe Kap. 311.

C y t o g e n e t i s c h e T e c h n i k: siehe Kap. 311. Außerdem wurden bei dieser Intensität neben Vollblut auch ankultivierte Lymphocyten in Teilung beschallt. Dabei sollte festgestellt werden, ob es Zellcyklusphasen mit erhöhter Sensibilität der Chromosomen gibt, wie sie aus der Strahlenmutagenese her bekannt sind, und ob es infolge einer möglichen Schädigung des Spindelapparates zu Fehlverteilungen der Chromosomen auf die Tochterzellen kommt. Der zeitliche Ablauf bei diesen Versuchen ergibt sich aus Abb. 2:

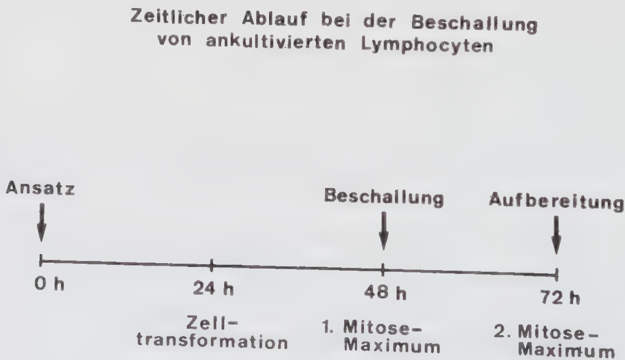


Abbildung 2:

Die Kulturen wurden jeweils zum ersten Mitose-Maximum (ungefähr 48 h nach Kulturansatz) im Wasserbad bei 37°C über 6 h beschallt, dann in die Universalcontainer zurückgefüllt, weiterkultiviert und nach 72 h zum zweiten Mitose-Maximum aufbereitet. Bei diesen Versuchen wurde Colcemid 6 h vor der Aufbereitung zugegeben. Auf diese Weise wurden neben Zellen in Mitose auch solche in der S- und in der G_2-Phase des Zellcyklus mit erfaßt.

Bei diesen Versuchen wurde neben den Chromosomenaberrationen auch der Mitose-Index (Anzahl der Mitosen auf 1000 ausgezählte Zellen) bestimmt.

Ergebnisse:
Die Ergebnisse sind aus Tabelle 2 a und b ersichtlich.

Tabelle 2a

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von heparinisiertem Vollblut mit Dauerschall einer Intensität von 0,02 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungs-dauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen
Spender A								
1 h	6	3		1	1		1	1
24 h	2		1		1			
Kontrolle	5	4	1					1
Spender B								
1 h	12	4		4	4			1
24 h	9	3		5	1			
Kontrolle	10	8		2	1			

Bei den Versuchen mit Vollblut (Tab. 2a) ergab sich ein ähnliches Bild wie bei den vorhergehenden Versuchen mit 0,002 W/cm^2: Der Anteil sekundär gestörter Mitosen stieg in keinem der Versuche infolge der Beschallung an. Bei den beobachteten Aberrationen handelte es sich auch hier um Gaps und Brüche. Außerdem wurde bei Spender A nach einstündiger Beschallung ein atypisches Chromosom beobachtet.

Unspezifische Defekte und tetraploide Zellen wurden nach Beschallung nicht gehäuft beobachtet, hyperploide Zellen traten nicht auf.

Dagegen war der Anteil gestörter Mitosen bei der Versuchsserie, bei der Zellen in Teilung beschallt worden waren (Tab. 2b), in allen Versuchen einschließlich der Kontrollen erhöht.

Tabelle 2b

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von sich teilenden Lymphocyten mit Dauerschall einer Intensität von 0,02 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungsdauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen	Mitose-Index
Spender B									
6 h (1.Ansatz)	15	11		3	2				88
6 h (2.Ansatz)	18	8	4	3	3			1	90
Kontrolle	14	6	1	4	3			1	85

Diese Tatsache wird dadurch erklärt, daß infolge der 6-stündigen Colcemideinwirkung gehäuft Spiralisierungsstörungen auftraten, die in einigen Fällen als Gaps

fehlinterpretiert wurden und so die ohnehin leicht erhöhte Aberrationsrate des Spenders B weiter ansteigen ließen. Für diese Annahme spricht auch die Tatsache, daß gerade Chromatid-Gaps in diesen Versuchen vermehrt auftraten. Chromosomenumbauten wurden auch bei diesen Versuchen nicht beobachtet. Ein Hinweis auf eine aberrationsauslösende Wirkung des Ultraschalles kann aus diesen Ergebnissen nicht abgeleitet werden.

Tetraploide Zellen traten auch in diesen Versuchen nicht vermehrt auf, hyperploide Zellen wurden nicht beobachtet. Der Mitose-Index war in allen Versuchen und Kontrollen ebenfalls gleich.

313 Intensität 0,2 W/cm^2

Methode:

B e s c h a l l u n g s g e f ä ß e : siehe Kap. 311. Diese Gefäße wurden während der Beschallung vom Vollblut mit Leitungswasser gekühlt. Bei der Beschallung der ankultivierten Zellen wurde bei dieser Intensität auf eine zusätzliche Erwärmung durch ein Wasserbad verzichtet.

S c h a l l q u e l l e : siehe Kap. 311. Hierbei wurde dem Meßsender zur Erhöhung der Leistung ein zusätzlicher Verstärker nachgeschaltet. Eichung: siehe Kap. 311.

K o p p e l u n g : siehe Kap. 311.

C y t o g e n e t i s c h e   T e c h n i k : Für die Beschallungsversuche mit Vollblut siehe Kap. 311. Für die Versuche mit Lymphocyten in Teilung wurde nach dem in Abb. 2 dargestellten Zeitplan vorgegangen. Wegen

der Gefahr einer zu großen Erhitzung bei dieser Intensität wurde im Gegensatz zu den Versuchen mit 0,02 W/cm^2 lediglich über eine Stunde beschallt. Colcemid wurde in diesem Falle wie bei den Versuchen mit Vollblut zwei Stunden vor der Aufbereitung zugegeben.

Ergebnisse:
Die Ergebnisse sind aus Tabelle 3 a und b ersichtlich.

Tabelle 3a

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von heparinisiertem Vollblut mit Dauerschall einer Intensität von 0,2 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungs-dauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen
Spender C								
1 h	8	4	2	2	3			
Kontrolle	13	5	4	3	4			

Tabelle 3b

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von sich teilenden Lymphocyten mit Dauerschall einer Intensität von 0,2 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungs-dauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen	Mitose-Index (‰)
Spender A									
5 min	7	3		3	1		1		22
1 h	8	4	2	4				1	14
Kontrolle	9	5	1	2	2				18
Spender C									
1 h	14	9	1	4	3			2	45
Kontrolle	10	5	1	1	3			4	29

Auch bei dieser Intensität ergab sich kein Hinweis auf eine aberrationsauslösende Wirkung des Ultraschalles. Die beobachteten Aberrationen waren sämtlich Gaps und Brüche in üblicher Häufigkeit, Umbaufiguren wurden nicht gehäuft beobachtet.

Als auffälliger Befund ergab sich lediglich bei den Versuchen mit Lymphocyten in Teilung bei Spender C ein leicht erhöhter Anteil tetraploider Zellen. Diese Erhöhung betraf aber sowohl die beschallte Kultur wie auch die Kontrolle.

314 Intensität 4 W/cm^2

Diese Intensität entspricht derjenigen, die maximal bei der Ultraschall-Therapie appliziert wird.

Methode:

B e s c h a l l u n g s g e f ä ß e : siehe Kap. 311.

S c h a l l q u e l l e : Als Schallquelle diente das Therapiegerät Sonostat 633 der Firma Siemens, das bei einer Frequenz von 870 kHz arbeitet. Die abgestrahlte Intensität wurde durch Messung mit der Schalldruckwaage Sonotest der Firma Siemens bestimmt.

K o p p e l u n g : Um eine stärkere Erhitzung über den Schallkopf zu verhindern, erfolgte die Beschallung im Wasserbad und im Fernfeld des Ultraschallstrahles ungefähr 10 cm vom Schallkopf entfernt. Dabei wurde bei der Beschallung von Vollblut mit Leitungswasser gekühlt. Bei der Beschallung von sich teilenden Lymphocyten wurde die Wassertemperatur bei 35°C gehalten.

C y t o g e n e t i s c h e T e c h n i k : Für Vollblut vgl. Kap. 311. Die Lymphocyten in Teilung wurden wie bei der Intensität von 0,2 W/cm^2 (vgl. Kap. 313) gemäß dem in Abb. 2 dargestellten Zeitplan über eine Stunde beschallt. Colcemid wurde zwei Stunden vor der Aufbereitung zugegeben.

Ergebnisse:

Die Ergebnisse sind aus den Tabellen 4 a und b ersichtlich. Es war auch hier in keinem der Versuche der Anteil gestörter Mitosen gegenüber den Kontrollen erhöht. Bei den beobachteten Aberrationen handelte es sich ausschließlich um Gaps und Brüche, Umbaufiguren wurden nicht beobachtet.

Unspezifische Defekte und tetraploide Zellen traten nicht gehäuft auf, hyperploide Zellen wurden nicht beobachtet. Der Mitose-Index blieb ebenfalls unbeeinflußt.

Tabelle 4a

Cytogenetische Befunde nach in-vitro-Beschallung von heparinisiertem Vollblut mit Dauerschall einer Intensität von 4 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungsdauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen
Spender A								
1 h	2			1	1			2
Kontrolle	1			2				
Spender D								
1 h	4	2	1	2				
Kontrolle	7	2		3	4			

Tabelle 4b

Cytogenetische Befunde nach in-vitro-Beschallung von sich teilenden Lymphocyten mit Dauerschall einer Intensität von 4 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungsdauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen	Mitose-Index (‰)
Spender A									
1 h	4	1	1	1	1				18
Kontrolle	7	3	3	1				2	19
Spender D									
1 h	4	1			3				37
Kontrolle	5	4			2				27

315 Intensität 35 W/cm^2

Methode:

B e s c h a l l u n g s g e f ä ß e (Abb. 3): Wegen der Gefahr einer zu starken Erhitzung bei diesen Intensitäten wurde der hintere Teil der Beschallungsgefäße abgesägt, sodaß nun eine beiderseits offene Silikon-Kautschuk-Röhre vorlag. Durch diese Röhre, die an beiden Enden durch eine Polyaethylenfolie verschlossen wurde, konnte der Ultraschall hindurchlaufen, ohne daß es zu einer Erhitzung des Blutes infolge einer Absorption an der Rückwand gekommen wäre. Bei dieser Versuchsanordnung erwärmte sich Blut unter der Beschallung von der Raumtemperatur (20°C) bis auf 33°C. Zur Schallabsorption hinter dem Gefäß diente eine geriffelte Silikon-Kautschuk-Platte.

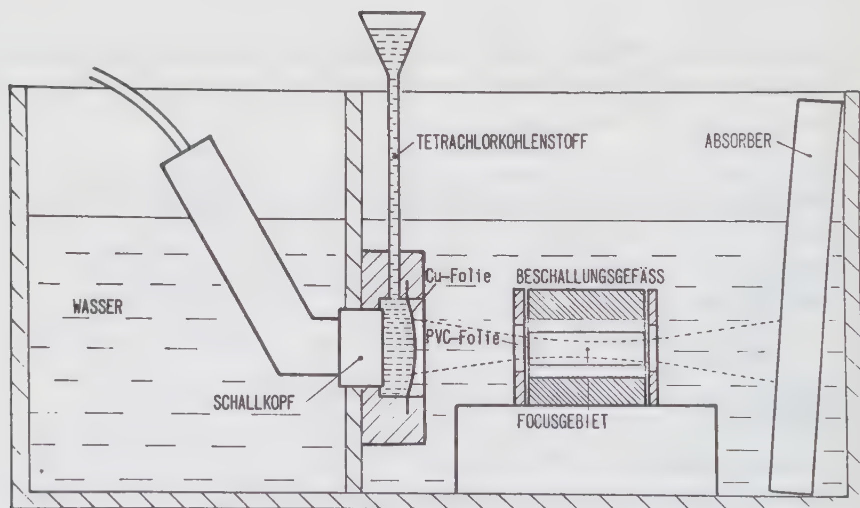


Abb. 3: Versuchsanordnung für die Beschallungsversuche mit 35 W/cm^2.

S c h a l l q u e l l e : Als Schallquelle diente wiederum das Therapiegerät Sonostat 633 der Firma Siemens (vgl. Kap. 314). Zur Erreichung höherer Intensitäten wurde der Schallstrahl mit einer Gesamtleistung von ungefähr 20 W mittels einer akustischen Linse fokussiert. Die Konstruktion dieser Linse ergibt sich aus Abb. 3: Der Ultraschallstrahl wurde durch Tetrachlorkohlenstoff auf eine konkav gebogene Grenzfläche geleitet, auf deren anderer Seite Wasser vorhanden war. Als Trennwand zwischen beiden Flüssigkeiten diente eine entsprechend geformte 0,02 mm dicke Kupfermembran. Infolge unterschiedlicher Schallgeschwindigkeiten in beiden Medien (Tetrachlorkohlenstoff 938 m/sec, Wasser 1500 m/sec) wurde der Schallstrahl im Fokusbereich auf einen Durchmesser von etwa 10 mm gebündelt. Es wurde also hier im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen nicht das gesamte Blutvolumen beschallt. Da die akustischen Widerstände von Tetrachlorkohlenstoff und Wasser gleich sind, kommt es an der Grenzfläche zwischen beiden Flüssigkeiten praktisch zu keiner Reflexion. Die Reflexion an der Kupferfolie ist wegen deren geringer Dicke gegenüber der verwendeten Wellenlänge (Wasser 1,75 mm, Tetrachlorkohlenstoff 1,1 mm bei 870 kHz) ebenfalls zu vernachlässigen. Eichung: Da sich die Linse im Nahfeld des Schallstrahles befand, konnte das hinter der Linse entstehende Schallfeld nicht exakt vorherberechnet werden. Die gemessene Intensitätsverteilung im Fokusgebiet zeigt Abb. 4. Die gesamte abgestrahlte Leistung wurde mit der Schalldruckwaage Sonotest der Firma Siemens bestimmt. Die maximale Intensität wurde aus dieser gemessenen Leistung und der experimentell bestimmten Intensitätsverteilung berechnet.

K o p p e l u n g : Über Tetrachlorkohlenstoff und Wasser (s.o.)

C y t o g e n e t i s c h e T e c h n i k und Auswertung: siehe Kap. 311 und 313.

——— NORMIERTER AMPLITUDENVERLAUF DES SCHALLFELDES IM FOCUSGEBIET (Spannung am Empfänger)
----- NORMIERTE INTENSITÄT IM FOCUSGEBIET (1 ≙ 35 W pro cm^2)

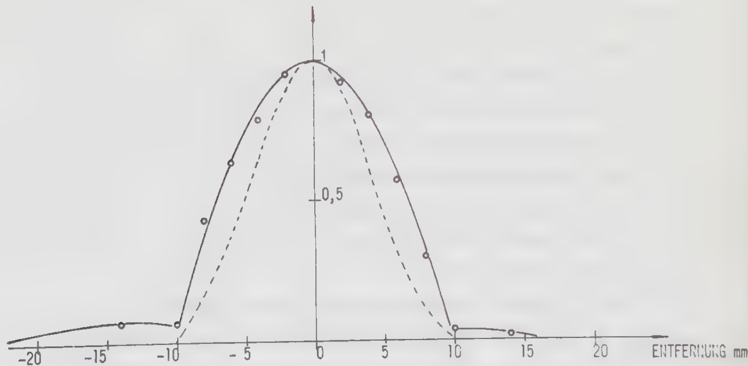


Abb. 4: Intensitätsverteilung im Fokusgebiet bei den Beschallungsversuchen mit 35 W/cm^2.

Ergebnisse:
Die Ergebnisse sind aus Tabelle 5 a und b ersichtlich:

Tabelle 5a

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von heparinisiertem Vollblut mit Dauerschall einer Intensität von 35 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungs-dauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen
Spender A								
1 h	10	5	1	4			1	1
Kontrolle	14	5		5	6			
Spender E								
1 h	7	2	1		4			
Kontrolle	8	2	1	3	2			

Auch bei dieser Intensität war der Anteil gestörter Mitosen nach der Beschallung gegenüber den Kontrollen nicht erhöht. Unspezifische Defekte sowie tetraploide und aneuploide Zellen wurden ebenfalls nicht vermehrt beobachtet, der Mitose-Index blieb auch hier unbeeinflußt.[1]

Tabelle 5b

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von sich teilenden Lymphocyten mit Dauerschall einer Intensität von 35 W/cm². Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungsdauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen	Mitose-Index (‰)
Spender A									
1 h	10	6		4	1				43
Kontrolle	10	5		5	6				20
Spender E									
1 h	10	4		4	2				18
Kontrolle	8	2	1	3	2				38

1) Dabei war bei diesen Versuchen die Ultraschall-Intensität so stark, daß ein Stück Schweinefleisch, welches infolge der stärkeren Absorption im Inneren stärker erhitzt wurde, nach 1stündiger Beschallung unter gleichen Versuchsbedingungen im Fokusgebiet "gar gekocht" war.

32 Beschallung mit Impulsschall

321 Intensität 0,02 W/cm^2

Versuche mit Impulsschall wurden lediglich mit einer mittleren Intensität von 0,02 W/cm^2 durchgeführt. Bei dieser Intensität, die ungefähr dem Doppelten der in der Diagnostik verwendeten entspricht, entstehen Impulsspitzen von 10 W/cm^2.

Methode:

B e s c h a l l u n g s g e f ä ß : siehe Kap. 311.

S c h a l l q u e l l e : Als Schallquelle diente ein modifiziertes Ultraschallimpulsgerät der Firma Krautkrämer (USIP 10) mit einem 2 MHz-Schallkopf. Die Impulsfolge betrug ca. 2000/sec, die Impulsdauer ca. 1 μsec. Eichung vgl. Kap. 311.

K o p p e l u n g und c y t o g e n e t i s c h e T e c h n i k : siehe Kap. 312.

Ergebnisse:

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 6 a und b ersichtlich.

Tabelle 6a

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von heparinisiertem Vollblut mit Impulsschall einer mittleren Intensität von 0,02 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungsdauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen
Spender A								
1 h	4	3	1					
Kontrolle	5	4	1					1
Spender B								
9 h	9	4	2	2	3			3
Kontrolle	10	8		2	2			

Tabelle 6b

Cytogenetische Befunde nach in-vitro Beschallung von sich teilenden Lymphocyten mit Impulsschall einer mittleren Intensität von 0,02 W/cm^2. Es wurden jeweils 100 Mitosen ausgewertet.

Beschallungs-dauer	Aberrante Mitosen in %	Aberrationstypen G'	G"	B'	B"	E'	E"	Tetraploide Mitosen	Mitose-Index (‰)
Spender B									
6 h	14	9		5					89
Kontrolle	14	6	1	4	3			1	85

Auch hier konnte in keinem der Versuche eine aberrationsauslösende Wirkung des Ultraschalles nachgewiesen werden. Bei den beobachteten Aberrationen handelte es sich um Gaps und Brüche, Umbaufiguren wurden nicht beobachtet.

Tetraploide Zellen wurden ebenfalls nicht gehäuft gefunden. Dagegen fand sich im 9-Stundenversuch mit Vollblut bei Spender B eine hyperploide Zelle mit 48 Chromosomen. Eine spindelschädigende Wirkung des Ultraschalles läßt sich daraus jedoch nicht ableiten.

4 Diskussion

Beim Ultraschall handelt es sich um eine rein mechanische Schwingung, bei der im Gegensatz zu ionisierenden Strahlen ein Schwellenwert für eine aberrationsauslösende Wirkung an den Chromosomen angenommen werden muß. Da unterhalb dieser Schwelle keine Schäden auftreten können, dürfte in diesem Bereich die Dauer der Anwendung ohne Einfluß sein. Ob diese Schwelle von der mittleren applizierten Leistung, von der Teilchenamplitude, der maximalen Teilchengeschwindigkeit, von den maximalen Beschleunigungskräften oder aber vom Auftreten von Kavitationen abhängig ist, ist zur Zeit noch nicht geklärt.

Bei den eigenen Versuchen wurde die geforderte Schwelle nicht gefunden, obwohl mit Dauerschall bis zu einer Intensität von 35 W/cm^2 beschallt worden war. Es konnte weder der Anteil gestörter Mitosen noch der Mitose-Index beeinflußt werden; aneuploide und tetraploide Zellen sowie unspezifische Defekte wurden ebenfalls nicht vermehrt beobachtet. Aufgrund dieser Tatsachen muß die Möglichkeit einer chromosomenschädigenden oder spindelschädigenden Wirkung des Ultraschalles bei der eigenen Versuchsanordnung und bei den angegebenen Frequenzen und Intensitäten verneint werden.

Die Auslösung von Genmutationen durch Ultraschall ist ebenfalls nicht zu erwarten. Bei den verwendeten Frequenzen (870 kHz und 2 MHz) treten Wellenlängen von 1,75 mm bzw. 0,75 mm auf, sodaß die Phasendifferenz benachbarter Atome und damit die mechanische Belastung bei den angewendeten Intensitäten zur Sprengung einer chemischen Bindung nicht ausreicht. Resonanzerscheinungen sind ebenfalls unwahrscheinlich, da die benutzten Frequenzen um mehrere Zehnerpotenzen unter den Eigenfrequenzen von Makromolekülen

liegen. Entsprechend ergaben Absorptionsmessungen an Lösungen biologischer Makromoleküle sämtlich eine annähernd lineare Abhängigkeit der Absorption von der Frequenz. Absorptionsmaxima, wie sie bei Resonanzen zu erwarten wären, wurden nie beobachtet (Übersicht bei DUNN u. Mitarb., 1969). Außerdem sind in der gesamten Mutageneseforschung bisher keine mutagenen Einflüsse physikalischer oder chemischer Art bekannt geworden, die ausschließlich Chromosomen- oder Genmutationen hervorrufen. Da bisher beide Phänomene immer gemeinsam auftraten, erscheint es erlaubt, induzierte Chromosomenaberrationen als Indikator für die Auslösung von Genmutationen zu benutzen (GEBHART, 1972). Daraus ergibt sich, daß bei den vorliegenden Befunden eine mutagene Wirkung des Ultraschalles allgemein verneint werden kann.

Diese Befunde können natürlich nur bedingt auf die intrauterinen Verhältnisse übertragen werden:

1.) Während in der Diagnostik Frequenzen bei 2 MHz zur Anwendung kommen, wurde bei den eigenen Versuchen in den höheren Intensitätsbereichen bei einer Frequenz von 870 kHz gearbeitet. Dies bedeutet gegenüber der Frequenz von 2 MHz eine Veränderung einiger wesentlicher Parameter. So ist bei 870 kHz die Teilchenamplitude um den Faktor 2/0,87 = 2,3 erhöht und die Teilchenbeschleunigung im gleichen Verhältnis erniedrigt, während sich die Teilchengeschwindigkeit nicht ändert. Damit ist bezüglich der Teilchenamplitude die Intensität von 35 W/cm^2 bei 870 kHz derjenigen von 80 W/cm^2 bei 2 MHz vergleichbar, Dagegen entspricht die Teilchenbeschleunigung bei 35 W/cm^2 und 870 kHz derjenigen bei 15 W/cm^2 und 2 MHz.

2.) Der häufigste Einwand, der gegen Untersuchungen wie die vorliegende vorgebracht wird, besagt, daß Blut als Flüssigkeit nicht mit einem Gewebe mit einer festgefügten Architektur, in der jeder Zelle ein bestimmter Platz zukommt, verglichen werden darf. Untersuchungen an Blut und Leberhomogenaten haben jedoch ergeben, daß die Ultraschallabsorption in Geweben auf molekularem Niveau stattfindet. Dabei ist die Stärke der Absorption weitgehend abhängig von der Art und Konzentration der vorliegenden Makromoleküle, besonders der Proteine, nicht dagegen von der Art der zellulären oder geweblichen Organisation (PAULY u. Mitarb. 1957). So ist z. B. die Absorption von intaktem und haemolysiertem Blut annähernd gleich. Da in der vorliegenden Untersuchung lediglich die Wirkung des Ultraschalles auf Chromosomen getestet wurde, die in allen Geweben den gleichen Bau aufweisen, erscheint bezüglich der Frage einer aberrationsauslösenden Wirkung des Ultraschalles der Analogschluß vom Blut auf andere Gewebe erlaubt. Dabei muß jedoch einschränkend gesagt werden, daß natürlich eine Schädigung der Chromosomen bei geringeren Intensitäten möglich ist, wenn es infolge starker Absorption zu einer Erhitzung des Gewebes kommt (wie z. B. an der Knochenoberfläche bei Intensitäten im Watt-Bereich). Bei diagnostischen Intensitäten kann diese Wärmewirkung des Ultraschalles jedoch vernachlässigt werden.

3.) Eine erhöhte Sensibilität embryonaler Gewebe im Gegensatz zum Blut kann bezüglich einer aberrationsauslösenden Wirkung des Ultraschalles ebenfalls ausgeschlossen werden. Bei ionisierenden Strahlen beruht die höhere Empfindlichkeit dieser Gewebe (wie auch die der Tumorgewebe) auf einem höheren Anteil von Zellen in Teilung. Bei den eigenen Versuchen konnten jedoch auch bei der Beschallung von Lymphocyten in Teilung keine Chromosomenaberrationen induziert werden.

Aufgrund der erhobenen Befunde und der obigen Überlegungen darf angenommen werden, daß diagnostischer Ultraschall (Dauerschall und Impulsschall) keine mutagene Wirkung aufweist. Aus genetischer Sicht ergibt sich daraus für Ultraschalluntersuchungen weder eine Begrenzung bezüglich der Indikationsstellung noch die Notwendigkeit der Begrenzung der Untersuchungszeit.

Die therapeutische Wirksamkeit des Ultraschalles beruht nach bisherigen Ergebnissen lediglich auf der Wärmeproduktion bei den angewendeten Intensitäten (bis zu 4 W/cm^2). Sichere Hinweise auf eine biologische Wirkung durch "Zellmassage" unabhängig von der Temperatursteigerung haben sich weder in früheren noch in den eigenen Versuchen ergeben. Nach PAULY und HUG (1954) sollte man trotzdem von einer besonders gearteten Wirkung des Ultraschalles sprechen, da infolge unterschiedlicher Ultraschall-Absorption verschiedener Gewebe eine spezifische räumliche Temperaturverteilung entsteht, die nicht ohne weiteres mit anderen Wärmeapplikationen verglichen werden kann. Die Auslösung von Chromosomenaberrationen ist hier ebenfalls nicht zu erwarten, sodaß von Seiten der Genetik keine Kontraindikationen gegen diese Behandlungsform bestehen.

5 Zusammenfassung

Um festzustellen, ob Ultraschall Chromosomenaberrationen zu induzieren vermag, wurden menschliches Venenblut und ankultivierte menschliche Lymphocyten in Teilung mit Ultraschall behandelt.

Bei der Beschallung wurden Spezialgefäße benutzt, die Reflexionen ausschließen. Die Versuchsanordnung wurde jeweils so gewählt, daß eine Erhitzung des beschallten Mediums möglichst vermieden wurde. Zur Anwendung kam bei den Versuchen Dauerschall bis zu einer Intensität von 0,2 W/cm^2 bei einer Frequenz von 2 MHz und bis zu einer Intensität von 35 W/cm^2 bei einer Frequenz von 870 kHz. Außerdem wurde Impulsschall einer mittleren Intensität von 0,02 W/cm^2 bei einer Frequenz von 2 MHz benutzt (Pulsfolge 2 000/sec., Pulsdauer 1μsec). Anschließend wurden die Chromosomen aus den Lymphocyten dargestellt und auf numerische und strukturelle Aberrationen untersucht. Trotz der hohen angewendeten Intensitäten konnte weder eine chromosomenschädigende Wirkung noch eine Schädigung des Spindelapparates der Mitose festgestellt werden. Die Zellteilungsaktivität blieb unter den Beschallungen ebenfalls unbeeinflußt.

6 Literatur

ABDULLA, U., S. CAMPBELL., C.J. DEWHURST, D. TALBERT, M. LUCAS, M. MULLARKEY: Effect of diagnostic ultrasound on maternal and fetal chromosomes. - Lancet II/1971, 829 - 831

BERNSTINE, R.L.: Safety studies with ultrasonic Doppler technique. A clinical follow-up of patients and tissue culture study. - Obstet. Gynec. 34 (1969) 707 - 709

BOBROW, M., N. BLACKWELL, A.E. UNRAU, B. BLEANEY: Absence of any observed effect of ultrasonic irradiation on human chromosomes. - J. Obstetr. Gynaec. Brit. Commonw. 78 (1971) 730 - 736

BOYD, E., U. ABDULLA, I. DONALD, J.E.E. FLEMING, A.J. HALL, M.A. FERGUSON-SMITH: Chromosome breakage and ultrasound. - Brit. Med. J. 2 (1971) 501 - 502

BUCKTON, K.E., N.V. BAKER: An investigation into possible chromosome damaging effects of ultrasound on human blood cells. - Brit. J. Radiol. 45 (1972) 340 - 342

COAKLEY, W.T., D.E. HUGHES, J.S. SLADE., K.M. LAURENCE: Chromosome aberrations after exposure to ultrasound. - Brit. Med. J. 1 (1971) 109 - 110

COAKLEY, W.T., J.S. SLADE, J.M. BRAEMAN, J.L. MOORE: Examination of lymphocytes for chromosome aberrations after ultrasonic irradiation. - Brit. J. Radiol. 45 (1972) 328 - 332

DEWHURST, C.J.: The safety of ultrasound. - Proc. Roy. Soc. Med. 64 (1971) 20

DUNN, F., P.D. EDMONDS, W.J. FRY: Absorption and dispersion of ultrasound in biological media. S. 205 - 332 in: SCHWAN, H.P.: Biological Engineering. - McGraw-Hill Book Comp., New York-St. Louis-San Francisco-London-Sydney-Toronto-Mexiko-Panama 1969

FISCHER, P., E. GOLOB, A. KRATOCHWIL, E. KUNZE-MÜHL: Chromosomenuntersuchungen nach Ultraschalleinwirkung. - Wien. klin. Wschr. 79 (1967) 436 - 437

GEBHART, E.: The treatment of human chromosomes in vitro: Results. S. 367 - 382 in: VOGEL, F., G. RÖHRBORN: Chemical mutagenesis in mammals and man. - Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1970

GEBHART, E.: Experimentelle Beiträge zum Problem der lokalen Achromasien (Gaps). - Humangenetik 13 (1971) 98 - 107

GEBHART, E.: Persönliche Mitteilung (1972)

HILL, C.R., G.P. JOSHI, S.H. REVELL: A search for chromosome damage following exposure of Chinese hamster cells to high intensity pulsed ultrasound.- Brit. J. Radiol. 45 (1972) 333 - 334

HOLLÄNDER, H.J.: Die Ultraschall-Diagnostik in der Schwangerschaft. - Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1972

KUNZE-MÜHL, E., E. GOLOB: Chromosomenanalysen nach Ultraschalleinwirkung. - Humangenetik 14 (1972) 237 - 246

MACINTOSH, I.J.C., D.A. DAVEY: Chromosome aberrations induced by an ultrasonic fetal pulse detector. - Brit. Med. J. 4 (1970) 92 - 93

MACINTOSH, I.J.C., D.A. DAVEY: Relationship between intensity of ultrasound and induction of chromosome aberrations. - Brit. J. Radiol. 45 (1972) 320 - 327

MOORHEAD, P.S., P.C. NOWELL, W.J. MELLMAN, D.M. BATTIPS, D.A. HUNGERFORD: Chromosome Preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. - Exptl. Cell Res. 20 (1960) 613 - 616

PAULY, H., O. HUG: Untersuchungen über den Einfluß von Ultraschallwellen und von Wärme auf den Stoffwechsel überlebender Gewebe. - Strahlentherapie 95 (1954) 116 - 130

PAULY, H., A. SMITH, H.P. SCHWAN: Contributions to the mechanism of absorption of ultrasound by tissues. - Vortrag auf der "International Conference of Ultrasonics in Medicine", Los Angeles 6. Sept. 1957

ROTT, H.-D., H.J. HUBER, R. SOLDNER, G. SCHWANITZ: Chromosomenuntersuchungen nach Einwirkung von Ultraschall auf menschliche Lymphozyten in vitro. - Elektromedica 1 (1972) 14 - 16

ROTT, H.-D., R. SOLDNER, J. van ZYL: Zur Wirkung von Ultraschall auf menschliche Chromosomen in vitro. - Geburtsh. u. Frauenheilk. 32 (1972) 662 - 665

SERR, D.M., B. PADEH, H. ZAKUT, R. SHAKI, S.M. MANNOR, B. KALNER: The effects of ultrasonic waves on the foetus. - Vortrag auf dem "Second Europ. Congr. of Perinatal Medicine", London 1970

SPERLING, K.: Persönliche Mitteilung (1972)

WATTS, P.L., A.J. HALL, J.E.E. FLEMING: Ultrasound and chromosome damage. - Brit. J. Radiol. 45 (1972) 335 - 339

Offsetdruck-Fotodruck
J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990